

Peran Gen *p16* pada Siklus Sel terhadap Pembentukan Kanker

Asmuddin

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Haluoleo Kendari, Sulawesi Tenggara

Abstrak

Gen *p16* yang juga dikenal dengan *MTS1*, *CDKN2*, dan *p16^{INK4a}* terletak pada kromosom 9 lokus *p21* sehingga sering disingkat *9p21*. *p16* merupakan gen penekan tumor yang berfungsi menghambat proliferasi sel berlebih.

p16 adalah gen penekan tumor yang menghasilkan protein yang mengikat *CDK4/CDK6* sehingga mampu menghambat siklus sel. Aktivitas *p16* diperlukan dalam siklus sel terutama pada fase *G1* ke fase *S*. Ketika sel berada dalam kondisi tertekan, maka sel tidak dapat melanjutkan ke fase berikutnya, oleh karena itu *p16* berperan penting dalam menghambat perkembangan kanker pada manusia.

Mutasi yang terjadi pada gen *p16* menghasilkan protein *P16* yang tidak mampu mengikat *CDK4/CDK6* dan menyebabkan tidak terkontrolnya siklus sel sehingga, mengakibatkan proses keganasan. Beberapa kanker timbul sebagai akibat hilangnya atau tidak berfungsinya gen penekan tumor secara sempurna, salah satu diantaranya adalah gen *p16*. Perubahan dari gen *p16* memicu tidak terkontrolnya pertumbuhan sel dan perjalanan terjadinya kanker

Kata Kunci : *gen 16, gen penekan tumor, siklus sel, kanker*

Pendahuluan

Kanker adalah pertumbuhan jaringan baru sebagai akibat proliferasi sel abnormal secara terus menerus serta memiliki kemampuan untuk menyerang dan merusak jaringan lainnya (Weinberg, 1999).

Transformasi keganasan sel terjadi akibat akumulasi mutasi pada sejumlah gen tertentu, dan hal ini yang merupakan kunci terjadinya kanker pada manusia. Gen terdapat dalam kromosom pada inti sel. Sebuah gen akan menentukan urutan asam amino yang harus dirang-

kaikan satu dengan lainnya untuk membentuk suatu protein, dan protein ini kemudian akan melaksanakan fungsi gen tersebut. Bila gen diaktifkan, maka sel akan bereaksi dengan jalan mensintesis protein yang telah disandinya. Mutasi gen dapat mengubah jumlah atau aktivitas produk proteinnya. (Weinberg, 1999).

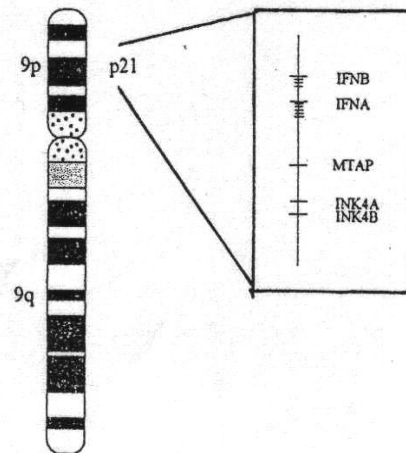
p16 adalah gen penekan tumor yang menghasilkan protein *p16* yang berfungsi sebagai pengikat *CDK4/CDK6* sehingga mampu menghambat siklus sel.

Aktivitas *p16* diperlukan oleh sel pada fase G₁ menuju fase S. (Masuda-Robens, 2001). Mutasi yang terjadi pada gen *p16* menghasilkan protein P16 yang tidak mampu mengikat *CDK4/CDK6*, sehingga mengakibatkan dan menyebabkan tidak terkontrolnya siklus sel sehingga, timbulah proses keganasan (Krug et al, 2002).

Letak dan Fungsi Gen *p16*

Gen *p16* yang juga dikenal dengan *MTS1*, *CDKN2*, dan *p16^{INK4a}* terletak pada kromosom 9 lokus p21 sehingga sering disingkat 9p21 (Gambar 1), bekerja menghambat *cyclin dependent kinase 4* (*CDK4*) yang berinteraksi dengan *cyclin D* dan menstimulasi jalan masuk melalui fase G₁. Formasi dari *CDK4-MTS1* memblok fosforilasi kompleks protein PRB dan hal ini merupakan, langkah penting yang dibutuhkan sel untuk bergerak dari fase G₁ ke fase S (Naggar, 1999).

Gen *p16* diketahui sebagai salah satu regulator negatif pada siklus sel, yang menghambat dan memblok fosforilasi *cyclin D-CDK4/CDK6* pada *pRb* serta mencegahnya keluar dari fase G₁.



Gambar 1. Kromosom 9 (Fuxe, 2001)

Siklus Sel

Siklus sel terdiri atas empat fase : fase G₁, S, G₂, M dan Go sebagai fase istirahat. Pada fase G₁ sel bertambah besar dan mempersiapkan diri untuk mengkopi DNA-nya. Pengkopian ini terjadi pada fase sintesis (S), dan memungkinkan sel untuk menggandakan diri sesuai dengan komplemen kromosomnya, setelah kromosom direplikasikan akan diikuti oleh fase G₂. Selama fase ini sel mempersiapkan diri untuk mitosis (M). Ketika sel parental yang membesar tersebut akhirnya membelah diri dan menghasilkan dua sel anak, masing-masing dibekali dengan satu set kromosom lengkap. Sel anak yang baru ini segera memasuki fase G₁ dan mungkin terus me-

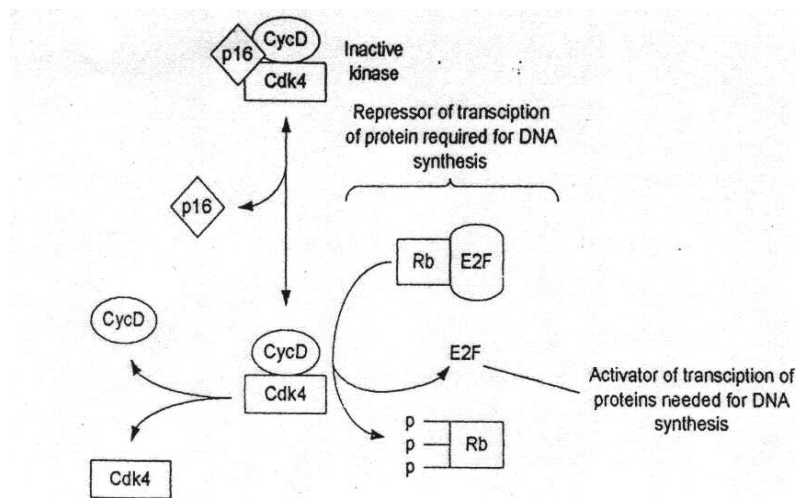
ngikuti keseluruhan siklus sel atau sel-sel ini akan berhenti mengikuti siklus tersebut, baik sementara atau permanen (Goodman, 1998).

Pembelahan sel pada tahap mitosis (M) dapat dihambat oleh beberapa faktor. Penghambatan ini harus terjadi sebelum sel mencapai titik batas, (R point: *restriction point*). Titik batas ini berada disekitar fase G_1 . Jika hambatan dilakukan setelah titik batas ditempuh sel dalam daurnya, maka pembelahan tidak berhenti bahkan terus berlangsung sempurna sampai menjadi dua sel, dengan menempuh tahap-tahap S, G_2 , dan M (Lodish et al, 1999).

Cyclin, CDK dan protein RB merupakan elemen sistem

kontrol yang alurnya diatur melalui *restriction point* (Gambar 2). Protein-protein ini mampu memeriksa siklus sel dan menahan sel untuk beristirahat atau memicu sel untuk apoptosis, sehingga diduga berarti protein-protein tersebut mampu mencegah pertumbuhan sel menjadi ganas. Kehilangan *p16* menyebabkan ekspresi berlebih *cyclin* D1, memicu hiperfosforilasi *Rb* dan melepaskan faktor transkripsi E2F (Lodish et al, 1999).

Dua peristiwa penting dalam reproduktif kehidupan sel adalah replikasi genom DNA pada fase S dan distribusi dari replikasi DNA menjadi sel anak pada mitosis (M). Kedua

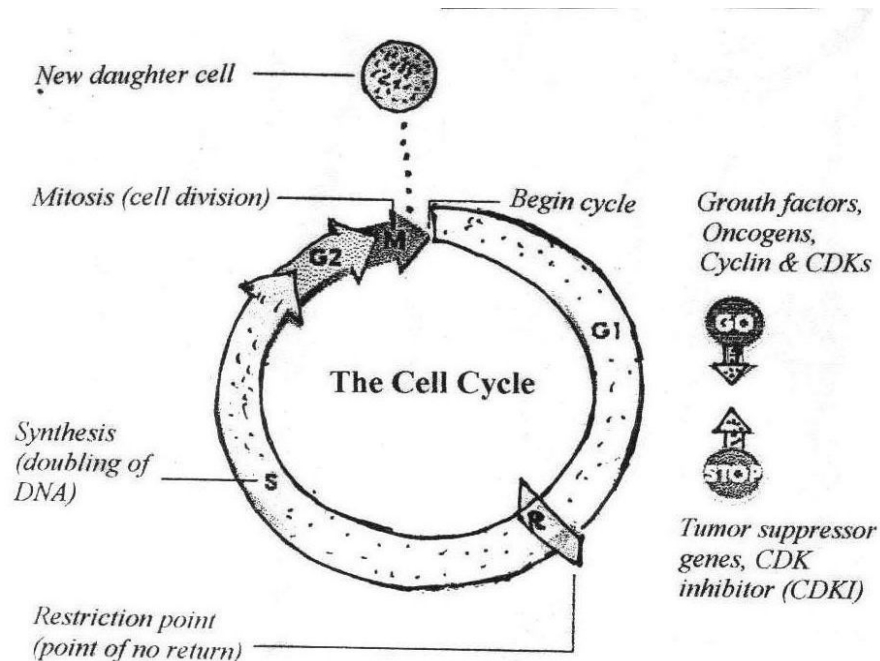


Gambar 2. *Restriction Point Control* (Lodish et al, 1999).

peristiwa tersebut terjadi karena sel muncul pada waktu yang terpisah yang dikenal sebagai *checkpoint*. *Checkpoint* mempunyai tiga komponen : sinyal spesifik untuk proses-proses seluler seperti replikasi DNA; lintasan sinyal transduksi; dan sebagai alat pendeteksi yang menerima sinyal dan menghubungkan enzim yang dibutuhkan dalam perkembangan siklus sel. *Checkpoint* sering terlihat dalam siklus sel yang terjadi pada akhir fase G_1 , fase S dan fase G_2 ke M. Pada umumnya sinyal *checkpoint* sebagai DNA based yang memonitor

penyelesaian replikasi kromosom, kerusakan DNA atau mengarahkan kromosom pada spindel di metafase. Akhir dari kontrol lintasan *checkpoint* umumnya mengatur aktivitas CDK tipe tertentu.

Dua kelompok protein intrinsik siklus sel yang mempercepat proliferasi adalah cyclin dan enzim pengikat *cyclin* yaitu *cyclin dependent kinase* (CDKs) (Gambar 3). Enzim-enzim ini dihambat oleh protein-protein yang dikenal sebagai *cyclin dependent kinase inhibitor* (CDKI) (Regezi dan Jordan, 2001).



Gambar. 3. Siklus Sel (Lodish et al, 1999)

CDKI merupakan regulator negatif yang berfungsi pada proliferasi, kontrol *checkpoint* dan penekan tumor. Berbagai kompleks *cyclin*-CDK diperlukan untuk memfosforilasi beberapa protein substrat yang penting untuk mendorong siklus sel, inisiasi, replikasi DNA, atau terjadinya mitosis. Selain untuk menentukan dimulainya tahap S atau mitosis, kompleks ini juga berperan penting untuk menghalangi inisiasi siklus sel yang salah pada setiap tahap dalam siklus sel. Siklus sel diatur oleh kompleks *cyclin*-CDK yang berbeda-beda sebagai contoh pada tahap G_1 kelanjutan siklus sel dikatalis oleh *cyclin* D-CDK4 dan *cyclin* E-CDK2 (Kumar et al, 2003).

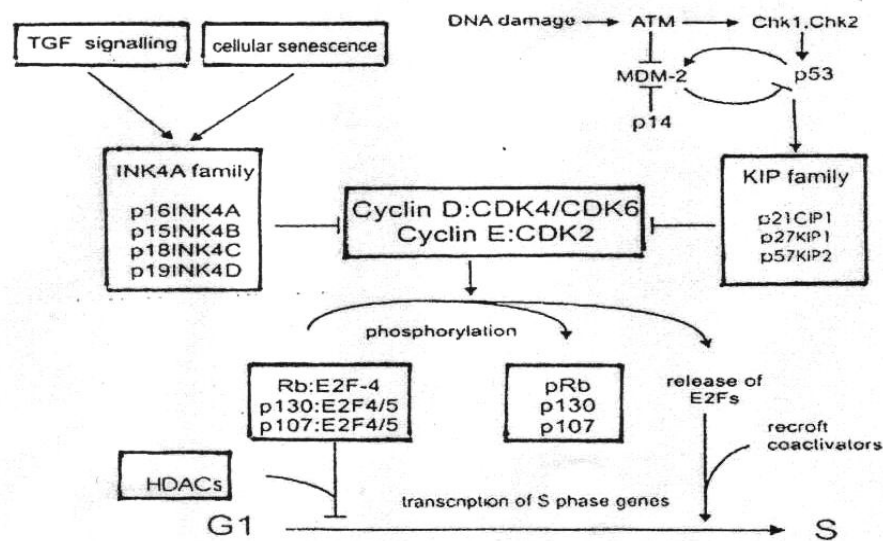
Transisi fase G_1 ke fase S

Regulator utama pada *checkpoint* fase G_1 ke fase S adalah kompleks *cyclin* D-CDK4 dan *cyclin* E-CDK2. Kelompok RB dan kompleks E2F menghambat transkripsi dari beberapa gen yang terlibat dalam fase S (Krug et al, 2002). Interaksi *cyclin*-kompleks CDK untuk pengaturan pada awal siklus sel adalah *cyclin* D. *Cyclin* D berinteraksi dengan 4 kinase yaitu CDK2, CDK4, CDK5, dan CDK6. CDK4 merupakan

pasangan utama pada sebagian besar jenis sel. Hilangnya pengaturan dari sintesis *cyclin* D dapat menyebabkan terjadinya kanker (Mc Donald dan Ford, 1997).

pRb adalah gen penekan tumor retinoblastoma yang dikloning dan diidentifikasi sebagai gen penekan tumor pertama. Fosforilasi protein PRB dimulai pada fase G_1 . PRB mengikat E2F dan menekan respon proses transkripsi dari E2F. E2F merupakan kelompok faktor transkripsi. *Cyclin* D merupakan *cyclin* yang aktif disintesis pada akhir fase G_1 , *cyclin* ini mengikat CDK4/CDK6. *Cyclin* E merupakan *cyclin* yang disintesis pada akhir fase G_1 dan mengikat CDK2. Ikatan kompleks *cyclin* D-CDK4/CDK6 dan ikatan kompleks *cyclin* E-CDK2 memicu proses fosforilasi ikatan kompleks PRB-E2F, sehingga menyebabkan E2F terlepas dari ikatan tersebut dan memulai aktivitas transkripsinya. Inaktivasi *pRb* melepaskan faktor transkripsi E2F dan mengikuti aktivitas gen-gen penting untuk sintesis DNA (Cotran et al, 1999 ; Kumar et al, 2003) (Gambar 4).

Kelompok *INK4*, sehingga hasil dari pengikatan tersebut menghalangi interaksi antara *cyclin* D-CDK4/CDK6 dan men-



Gambar 4. Transisi Fase G1 ke Fase S Dalam Siklus Sel (Krug et al, 2002).

cegah proses aktivasinya. Jika sel berada dalam kondisi tertekan atau sel tidak mengizinkan terjadinya siklus sel maka *INK4* menjadi aktif mengikat *CDK4/*

CDK6 serta mencegah proses fosforilasi dari *PRB* (Mc Donald dan Ford, 1997; Masuda-Robens, 2001). Aktivasi *p16* diperlukan oleh sel pada fase G1 menuju fase S yaitu bila terjadi kerusakan pada protein yang dibentuk (Mc Donald dan Ford, 1997).

Peran *p16* Dalam Siklus Sel

Pada G₁, *cyclin D* berikatan dengan *CDK4/CDK6* dan menghasilkan aksi kompleks

pada molekul penghambat yang sangat kuat yaitu protein yang dikenal sebagai *PRB/P16* dan memungkinkan sel untuk melanjutkan diri ke fase S (Williams, 2000).

p16 bekerja pada lintasan awal dan bereaksi pada sinyal anti proliferasi dan juga berperan sebagai regulator negatif dari *cyclin D/CDK4*. *Cyclin D*, *p16* dan *pRb* berperan dalam transisi dari fase G₁ ke fase S pada siklus sel dan sering kali berubah dalam beberapa kanker (Naggar et al, 1999).

Gen *Rb* mengontrol *checkpoint* dalam fase G₁ pada siklus sel dan jalur *Rb* umumnya dihambat selama perkembangan

kanker (Lang et al, 2002). *pRb* memegang peranan penting dalam mengontrol siklus sel. Pusat regulasi dari siklus sel adalah kelompok protein yang dikenal dengan *cyclin*. *Cyclin* ini tidak bekerja sendiri tetapi bekerja sama dengan *cyclin-dependent kinase* (CDK), pada gilirannya akan mempengaruhi substansi lain melalui fosforilasi seperti *p16* yang menghambat aktivasi dari CDK (Kumar et al, 2003).

Regulasi siklus sel penting dalam perjalanan tumor dengan mengendalikan aksi dari CDKs, aktivasi ini diatur melalui *cyclin* dan CDKI. Kompleks *cyclin* D-CDK4 atau CDK6 memacu terjadinya fosforilasi dari *Rb* selama fase pertengahan atau akhir fase G_1 . *Cyclin* D-CDK merupakan regulator positif melalui pertumbuhan mitogenik dan menjadi negatif bila bergabung dengan kelompok CDKI, termasuk di dalamnya kelompok dari gen *INK4* (*p16^{INK4a}*, *p15^{INK4b}*, *p18^{INK4c}* dan *p19^{INK4d}*). CDKI bertanggung jawab untuk mengatur siklus sel dan menghentikan proliferasi jika pertumbuhan sel sudah cukup (Papadimitrakopoulou et al, 1997).

Protein *P16* meningkat perlahan mencapai maksimum pada transisi fase G_1/S , dan diperkirakan bertanggung jawab

untuk inaktivasi *cyclin* D/CDK4/ CDK6 pada fase G_1/S ketika fosforilasi *pRb* telah cukup untuk sel masuk ke fase S (Hirama et al, 2000).

Terdapat suatu perangkat molekuler dalam inti sel yang dikenal sebagai jam siklus sel (*cell cycle clock*). Jam ini merupakan pembuat keputusan dalam sel dan akan kacau pada hampir semua tipe kanker manusia. Pada sel normal, jam ini mengintegrasikan gabungan sinyal pengaturan pertumbuhan yang diterima sel dan memutuskan apakah sel harus melewati siklus kehidupannya atau tidak, dan jika jawabannya positif maka jam tersebut akan mengarahkan proses tersebut (Masuda-Robens, 2001).

Jam siklus sel ini memprogramkan suksesi kompleks melalui sejumlah molekul. Terdapat dua komponen esensial yaitu *cyclin* dan *cyclin-dependent kinase*, yang bergabung satu sama lain dan mengawalinya masuk ke berbagai fase siklus sel. Pada G_1 sebagai contoh *cyclin* D berikatan dengan CDK4 atau CDK6 dan menghasilkan aksi kompleks pada molekul penghambat pertumbuhan yang sangat kuat, yaitu protein yang dikenal sebagai *P16*. Aksi ini meniadakan efek penghambatan pada *pRb* dan memungkinkan

sel untuk melanjutkan diri ke fase G₁ akhir dan kemudian ke fase S (sintesis DNA). Sejumlah protein penghambat dapat menahan pergerakan siklus sel selanjutnya. Salah satu diantaranya adalah *p15* dan *p16*, keduanya akan memblokir aktivitas primer partner CDK dan *cyclin D*, jadi akan menghambat pertumbuhan sel dari fase G₁ ke S (Masuda-Robens, 2001).

***p16* Sebagai Gen Penekan Tumor**

Gen-gen yang berperan penting dalam pertumbuhan sel proto-onkogen dan gen penekan tumor. Proto-onkogen mengkode faktor pertumbuhan, membran dan reseptor sitoplasma. Protein ini memainkan peranan dalam sinyal transduksi intraseluler. Proto-onkogen menggunakan dampak positif dari proliferasi seluler, sebaliknya gen penekan tumor sebagai pengatur penghambat proliferasi seluler (Baker et al, 1996).

Proto-onkogen merupakan gen yang meningkatkan pertumbuhan sel dalam keadaan yang masih terkontrol. Protein yang dihasilkan proto-onkogen berperan penting pada pertumbuhan dan diferensiasi normal, tetapi apabila gen-gennya mengalami mutasi atau hiperaktif,

proto-onkogen berubah menjadi onkogen, dimana proliferasi sel tetap berlangsung tetapi tidak normal (Bast et al, 1998).

Onkogen merupakan gen yang dominan dan akan memicu proses transformasi seluler, sehingga proto-onkogen dan onkogen memiliki andil besar pada patogenesis, sedangkan perkembangan kanker dan perilakunya tampak lebih berkaitan dengan aksi gen terkait tumor lainnya seperti gen penekan tumor, gen anti apoptosis atau gen anti metastasis (Leong, 1995).

Menurut Lodish et al, (1999), perubahan dari proto-onkogen menjadi onkogen biasanya melibatkan mutasi *gain-of function*. Setidaknya ada 3 mekanisme yang dapat memproduksi onkogen dari proto-onkogen yaitu :

1. *Point* mutasi dipproto-onkogen hasil dari pengkodean produk protein.
2. Reduplikasi lokal dari segmen DNA yang didalamnya ada proto-onkogen.
3. Translokasi kromosom yang menyebabkan pengontrol pembelahan sel menjadi tidak terkontrol.

Gen penekan tumor atau anti onkogen secara normal mengatur pertumbuhan sel, diferensiasi dan memainkan peranan penting dalam perkembang-

an kanker pada sel normal (Leong, 1995). Gen penekan tumor bekerja sebagai perusak sel, gen ini mengkode protein yang menghambat pertumbuhan sel dan mencegah sel menjadi ganas (Karp, 2002).

Beberapa kanker timbul sebagai akibat hilangnya atau tidak berfungsinya gen penekan tumor secara sempurna. Kunci dari protein pengatur gen adalah gen ini dikode dari dua protein penekan tumor yaitu PRB dan P53. Bentuk aktif PRB bertindak sebagai penghambat replikasi DNA. Mutasi dari gen *pRb* menyebabkan setiap protein yang dihasilkan menjadi tidak aktif dan mengakibatkan pembelahan sel tidak terkendali (Kumar et al, 2003). Gen *p16* dan *pRb* bertindak sebagai pengatur siklus sel (Karp, 2002).

Gen penekan tumor merupakan gen normal yang berperan untuk mencegah perkembangan neoplasma (Friedman et al, 1996). Gen penekan tumor umumnya mengkode protein yang menghambat proliferasi sel. Kehilangan regulator ini dapat menyebabkan terjadinya kanker. Lima kelas protein yang biasa dikode oleh gen penekan tumor (Lodish et al, 1999) yaitu :

1. Protein intraselluler, seperti *p16 cyclin-dependent kinase inhibitor*, yang menghambat

pembelahan melalui fase tertentu dari siklus sel.

2. Hormon reseptor yang fungsinya untuk menghambat pembelahan sel.
3. Protein pengontrol *checkpoint* yang menghambat siklus sel jika terjadi kerusakan DNA atau kromosom abnormal.
4. Protein yang bisa menginduksi apoptosis.
5. Enzim yang berperan dalam perbaikan DNA.

Transformasi sel normal menjadi sel kanker disertai dengan hilangnya fungsi dari satu atau lebih gen penekan tumor, seperti gen yang mengkode faktor transkripsi (*p53* dan *WT1*), dan pengatur siklus sel (*pRb* dan *p16*), *NF1*, *PTEN*, dan *VHL*. Sebagian besar dari protein-protein ini dikode melalui kerja gen penekan tumor sebagai penghambat proliferasi sel apabila pertumbuhan sel mulai tidak terkontrol (Karp, 2002). Pada sebagian besar kanker terjadi inaktivasi protein-protein yang berfungsi normal pada siklus sel termasuk *p16* (Bast et al, 1998).

Kesimpulan

1. Gen *p16* merupakan regulator negatif yang menghambat interaksi cyclin D-CDK4/CDK6 dan memblokir fosforilasi dari protein PRB yang di-

- perlukan sel untuk bergerak dari fase G₁ ke fase S.
2. Pada saat sel dalam kondisi tertekan maka sel tidak dapat melanjutkan ke fase berikutnya, oleh karena itu gen p16 berperan penting dalam menghambat perkembangan kanker pada manusia.
 3. Beberapa kanker timbul sebagai akibat hilangnya atau tidak berfungsinya gen peneakan tumor secara sempurna, salah satu diantaranya adalah gen p16.

Daftar Pustaka

- Baker, V.V., O. Martinez-Maza, J.S. Berek.** 1996. *Molecular Biology nad Genetics*. In *Gynecology*. 12th ed. J.S. Berek., E.Y. Adashi., P.A. Hillard (Eds). USA : Williams & Wilkins.
- Bast, R.C., Kufe, D.W., Pollock, R.E, et al.** 1998. *Cancer Medicine*. 5th ed. Holland: B.C Decker Inc.
- Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T.** 1999. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. WB Saunders Company. Philadelphia. 5th edition. p : 755-756.
- Friedman, R.J., Rigel, D.S., Berson, D.S., et al.** 1996. *Skin Cancer : Basal Cell and Squamous Cell Carcinoma*, In : *Clinical Onco-logy*. Hottlet, A.H., Fink, D.J, Berson, D.S., et al (Eds). New York. American Canter Society.
- Fuxe, J.** 2001. *p16^{INK4a} and p15^{INK4b} in Senescence, Immortalization and Cancer Gene Transfer by Adenovirus Vectors*. Ludwig Institute, Stockhlom Branch, Departement of Cell Molecular Biology, Karolinska Institute, Sweden.
- Goodman, RS.** 1998. *Medical Cell Biology*. Lippincott-Raven USA. 282-284
- Hirama, T. M. Akasi., P.H. Koeffler.** 2000. *Cyclin-Dependent Kinase and Their Inhibitors in Haematological Malignansies*.
- Karp, G.** 2002. *Cell and Molecular Biology Concepts and Experiment*. 3rd ed. New York : Jhon Wiley & Sons Inc.
- Kastan, MB.** 1997. *Molecular Biology of Cancer : The Cell Cycle*. In De Vita Jr. *Principles and Practice of Oncology*. 5th ed. Philadelphia. Lippincott Raven Pub. 79-100
- Krug, U., Ganser, A., Koeffler, H.P.,** 2002. *Tumor Suppressor Gene in Normal and Malignat Hematopoiesis*. Nature Publishing Group. *Oncogen* 21: 3475-2497
- Kurihara, Y., K. Egawa., S. Kunitomo, et al.** 2002. *Induction of p16/INK4A Gene Expression and Cellular Senescence by Toyocamycin*. *Biol Pharm Bull* 25 (10) : 1272-1276.
- Kumar, V., Cotran, S.R, and Robbins, L.S.** 2003. *Robbins Basic Pathology*. 7th ed. Saunders Philadelphia London Toronoto Montreal Sydney Tokyo. 174-185
- Lang, J.C., Borchers, J., Danahey, D, et al.** 2002. *Mutation Status of Overexpressed p16 in Head and Neck Cancer : Evidence for Germline Mutation of p16/p14^{ARF}*. *J Oncol* 21 : 401-408.
- Leong, ASY, Robbins, P., and Spagnalo, DU.** 1995. *Relevance and Detection System of Tumor Genes and Their Proteins In Cytologic and Surgical Specimens*. Jakarta. Int. Cancer Conference. 3-26.
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S.L., Matsudaria, P., et al.** 1999. *Molecular Cell Biology*. 4th ed. WH Freeman and Co
- Masuda-Robens, J.** 2001. *Cell Cycle Regulation*. The Departemen of Cell and Developmental Biology.
- Matsuda, H., Konishi, N., Hayashi, I, et al.** 1996. *Alteration of p16/CDKN2, p53 and Ras Genes In : Oral Squamous Cell Carcinoma and*

- Premalignant Lesions*. J Oral Pathol Med 25 : 232-238.
- Mc Donald, F and Ford, CHJ.** 1997. *Molecular Biology of Cancer*. Oxford. BIOS. Scientific Pub. 53-7
- Naggar, AK., Lai, S., Clayman, GL., Zhou, JH., et al.** 1999. *Expression p16, Rb, and Cyclin D1 Gene Products in Oral and Laryngeal Squamous Carcinoma : Biological and Clinical Implications*. Hum Pathol. Sep;30(9):1013-8.
- Papadimitrakopoulou, V., Izzo, J., Lippman, S.M. et al.** 1997. *Frequent Inactivation of p16^{INK4a} In* "Oral Premalignant Lesions. Oncogene 14 : 1799-1803.
- Regezi, J.A., Jordan, R.C.K.** 2001. *Oral Cancer in Molecular Age*. J Calif Dent Assoc. 29 : 578-584
- Weinberg, RA.** 1999. *How Cancer Arises*. Sci Am; 275 (3) : 32-40
- Williams, H.K.** 2002. *Molecular Pathogenesis of Oral Squamous Carcinoma*. J Clin Pathol 53 : 167-172.

